チューブ用　発光測定装置

AB-2270 Luminescencer Octa

アトー株式会社は1980年にHPLC用の発光検出器を製品化したのを最初に、1991年には化学発光を利用した培養細胞活性測定法の装置開発を分担し、発光を自動計測できるマイクロプレートリーダー“Luminescencer”を1994年に製品化しました。その後、1997年に汎用小型ルミノマイクロプレートリーダー“Luminescenser JNR”、2001年には、試験管用の“Luminescencer PSN”を製品化し、発光計測メーカーとして品揃えを進めてきました。

1991年以降は、発光イメージングシステム、活性酸素測定法、発光スペクトル測定法、多色同時発光の分離解析法、ホタルLucifease反応機構、分泌型Luciferaseとその発光基質、発光計測の標準化に向けた光子数計測法、近赤外発光測定技術など、応用技術だけでなく基礎技術の開発にも注力してきました。

このような背景から開発された “ATTO Luminescer Octa” は、最初に開発した“Luminescencer”から数えて８機種目の製品でしたので、“Octa” を付記しました。本機は、“Luminescencer PSN”の後継機としての位置づけですが、高感度化を実現した高性能な発光測定装置です。

概要

Luminescencer OCTA は試験管中の試料の計測に最適化された発光測定装置（ルミノメーター）です。400~670nmまでの様々な発光を計測できる低ノイズのフォトンカウンティング技術に発光の測定効率を極限まで追求した光学系を加えることによって高感度化を実現し、繰り返し分注精度の高いポンプによって再現性の高い測定が行えるようになりました。さらに、色違いの発光が同一サンプル中に混在する場合であっても、独自のフィルタリング機能によって、それぞれの発光を分離計測することが可能です。計測には、外径12mm、長さ55mmの試験管、1.5mLの遠心チューブが利用できます。

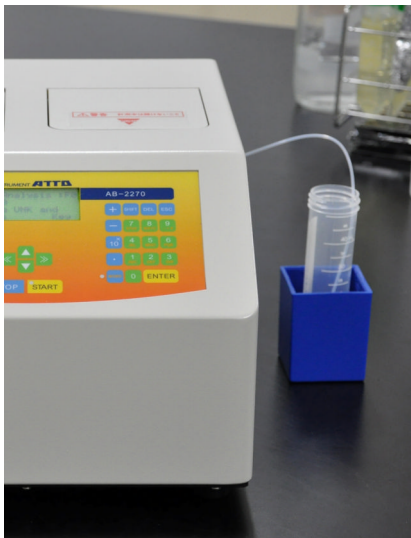
特長

- 幅広いダイナミックレンジ(8桁)
- 高感度
  →ルシフェラーゼでは1zmol(10^{-21}moles)まで検出することができます。
- 瞬時発光から長時間計測
  →計測時間は最大2000秒と長時間に対応しました。計測分解能は100msec（計測時間100秒まで）と瞬時発光にも対応しています。
- 400～670nmの広い発光波長計測範囲
  →赤色の発光を感度良く測定できます。
- 分注ポンプ内蔵
  →発光試薬や刺激剤などを試料に自動添加することができます。
- 三色発光の自動解析機構
  →フィルター(560LP、600LP)の自動切換により最大3色まで発光波長成分を分離解析できます。
- 室温+5℃～40℃の加温機能（オプション）
  →細胞、組織などを最適な温度条件下で測定することができます。

1　計測条件設定

タッチパネルで計測条件を設定します。

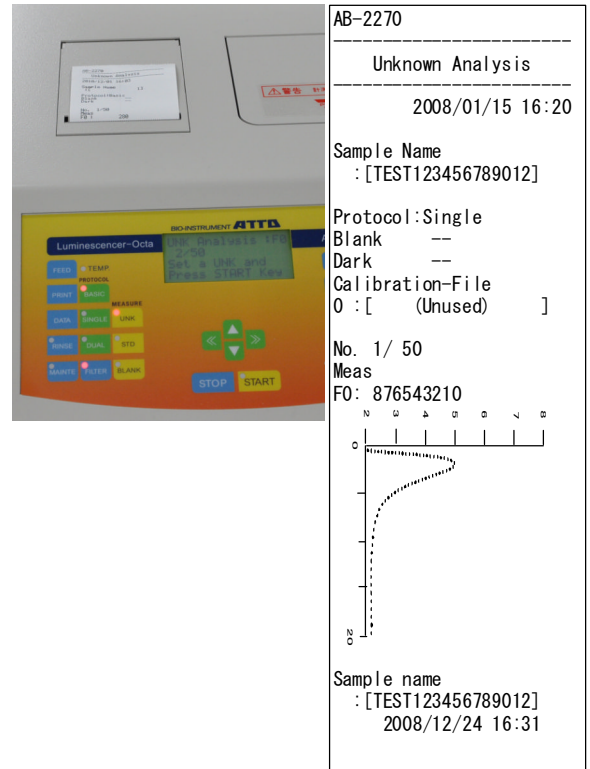
2　発光試薬の準備

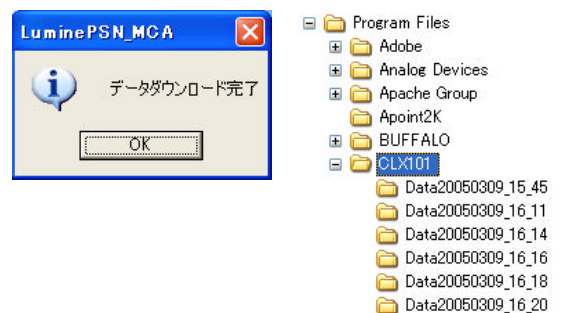
ポンプと配管のデッドボリウムが少なく（約500μL）、少量の試薬で計測を行えます。

3　サンプルのセット

試験管にサンプルをとり、試験管ホルダーにセットします。

4　計 測

STARTキーを押すと、設定した計測条件に従って、ポンプ分注と同時に計測が開始されます。設定した計測時間が経過すると、計測値とカイネティクスの結果がプリントアウトされます。

AB-2270
Unknown Analysis
2008/01/15 16:20
Sample Name
:[TEST123456789012]
Protocol:Single
Blank --
Dark --
Calibration-File
0 :[(Unused)]
No. 1/ 50
Meas
F0: 876543210
Sample name
:[TEST123456789012]
2008/12/24 16:31

5　Excelによるファイル読み込み

検量線作成、デュアルレポーターアッセイで使われる比率計算などの解析メニューが標準装備されています。USBケーブルでPCと接続すると、計測値、解析値等がCSVファイル形式でPCにダウンロードできます。

3種類の計測モード

計測モードはBasic, Single, Dual から選択できます。発光計測時間は１秒～2000秒、リピート回数は最大99回です。

Basic

```
Protocol:Basic
 1.Tube Type              55mm
 2.Multicolor               ON
  a.Filter                  F1
  b.Step Time             1sec
  c.Auto Calc               ON
     Transmittance
        F1     F2
  001: 0.654    --
  002: 0.123    --
 3.P-Int                 100ul
 4.Analysis Time         10sec
 5.Result Format        Integr
 6.Integr  Start          0sec
           End           10sec
 7.Print Kinetic           OFF
```

Single

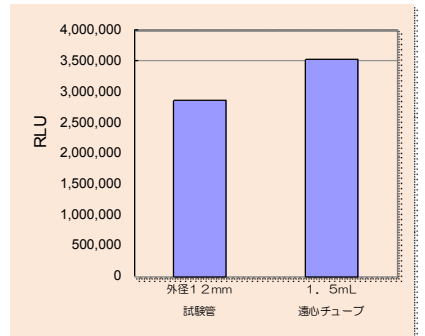
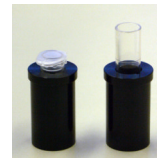
```
Protocol:Single
 1.Tube Type              55mm
 2.Multicolor              OFF
 3.Delay (1st)            5sec
 4.P-Int                 200ul
 5.Delay (2nd)            5sec
 6.Analysis Time         10sec
 7.Repeat Analysis          ON
  a.Interval Time        10sec
  b.Repeat Time             2)
 8.Result Format        Integr
 9.Integr  Start          0sec
           End           10sec
10.Thermostat              OFF
11.Blank                   OFF
13.Print Kinetic           OFF
```

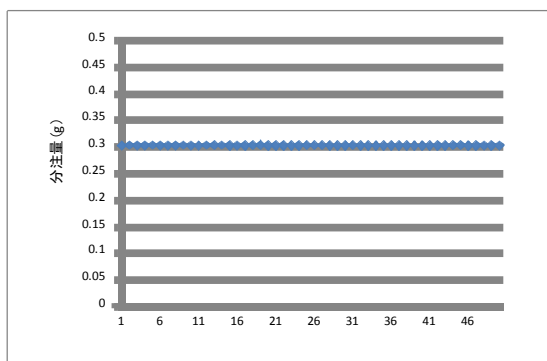
計測までの待ち時間 ― 3.Delay (1st)
ポンプ分注量 ― 4.P-Int
計測時間 ― 6.Analysis Time
リピート計測設定 ― 7.Repeat Analysis
発光量積算時間 ― 9.Integr

Dual

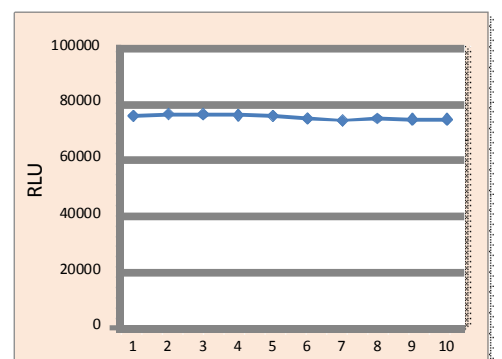
```
Protocol:Dual
 1.Tube Type              55mm
 2.Multicolor               ON
  a.Filter                  F1
  b.Step Time             1sec
  c.Auto Calc               ON
     Transmittance
        F1     F2
  001: 0.654    --
  002: 0.123    --
  d.Refarence         F0(2nd)
 4.Delay (1st)            0sec
 5.Analysis (1st)        10sec
 6.Result Format        Integr
 7.Integr  Start          0sec
           End           10sec
 8.P-Int                   Mul
 9.Delay (2nd)            0sec
10.Analysis (2nd)        10sec
11.Integr  Start          0sec
           End           10sec
12.Thermostat              OFF
13.Blank                   OFF
```

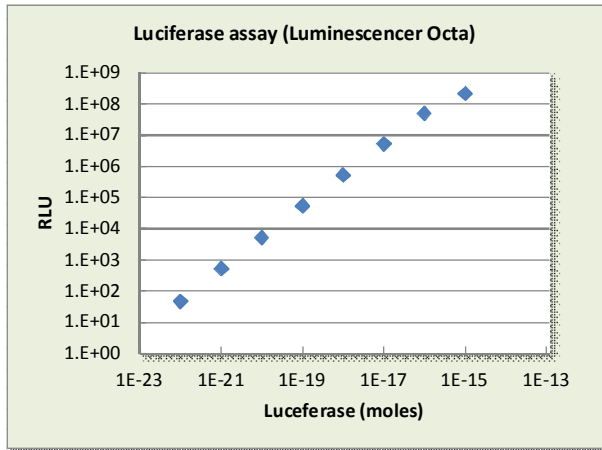
2種類の試料容器

測定容器には外径12mm長さ55mmの試験管または1.5mLの遠心チューブが利用できます。10^{-7} M ATP 25μLとLuciferase溶液25μLをそれぞれの容器にとり、10sec間発光量を計測したところ、計測値に大きな違いは見られませんでした。（遠心チューブを用いる場合は、ポンプの自動分注は使えません。）

試薬分注

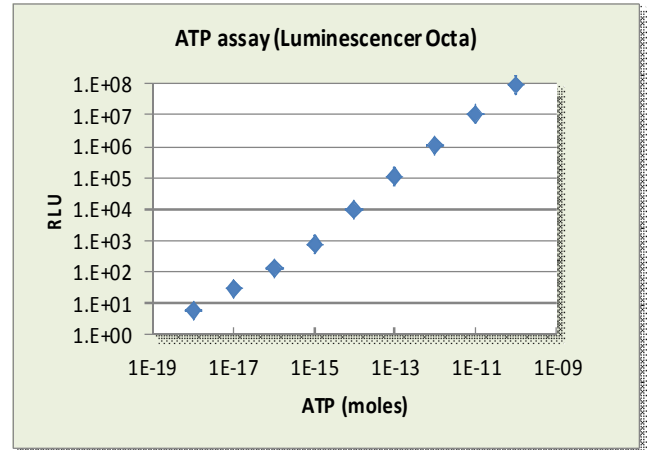
試薬分注用のポンプには繰り返し精度と分注スピードに優れたプランジャー型ポンプが使われています。このポンプで300μＬずつ50回の分注を行った結果、CV値は0.057%であり、分注精度が優れていることが示されました。

ポンプ分注量の秤量結果

計測モード

北米産ホタルLuciferaseの安定発光を利用してLuminescencerOCTAの測定再現性を確認しました。10秒間の発光量を10回計測した結果、CV値は1.1%でした。この時の測定値は約74000、ダークカウント値は約100でした。酵素活性の不安定性による影響は若干受けるものの、再現よく発光を計測することができます。

Luciferase Assay

Luciferaseの検出感度を計測した結果です。Luminesccencer Octaを使用するとLuciferaseは少なくとも1zmoles(10-21moles)まで検出することが可能です。また直線性ダイナミックレンジはlog7と幅広い濃度のサンプルを定量的に計測できます。

【実験方法】
ルシフェラーゼ希釈液を55mmチューブに80μLずつ分注し、Luciferase希釈溶液を20μLずつ添加しました。すばやく混合後、Luminescencer Octaにセットし、2秒後から10秒間の発光積算値を計測しました。

ATP Assay

ATPの検出感度を計測した結果です。Luminesccencer OctaではATPは少なくとも1amoles(10-18 moles)まで検出することが可能です。また直線性ダイナミックレンジはlog8くと幅広い濃度のサンプルを定量的に計測できます。

【実験方法】

ATP検出用ルシフェラーゼ反応液を55mmチューブに90μLずつ分注し、ATP希釈溶液を10μLずつ添加しました。すばやく混合後、Luminescencer Octaにセットし、2秒後から10秒間の発光積算値を計測しました。

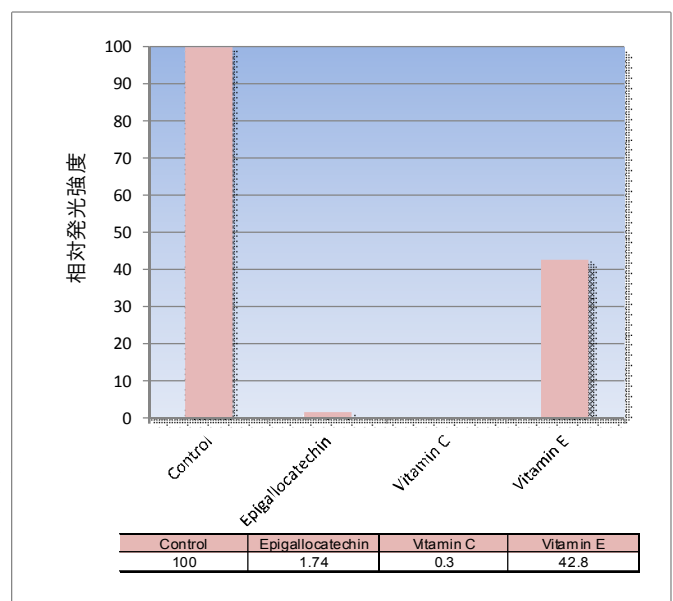
活性酸素消去能の測定

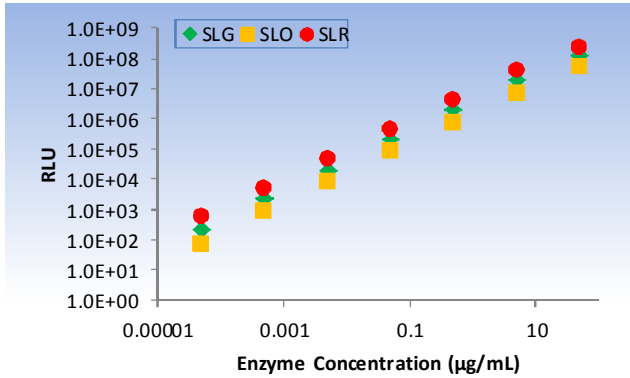
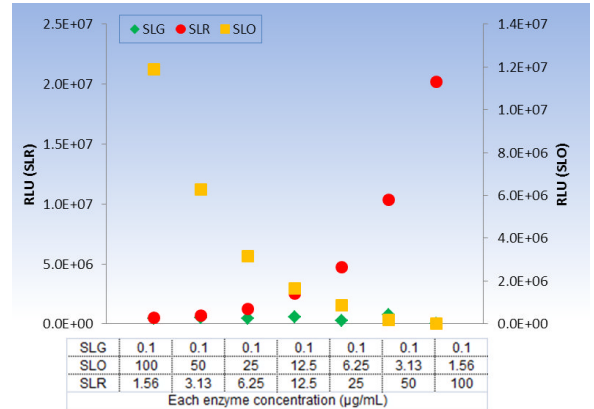
お茶に含まれるカテキンなどの抗酸化成分の活性酸素消去能を簡単に測定することができます。

【実験方法】

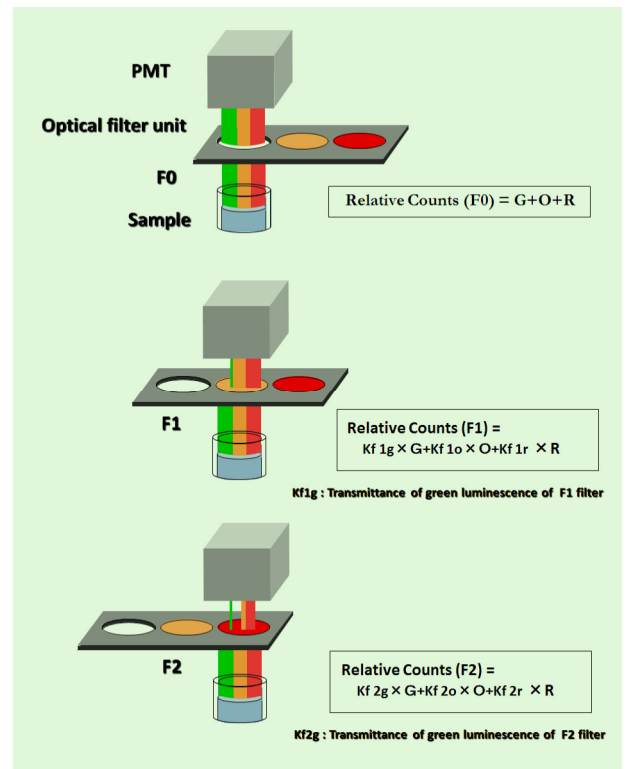
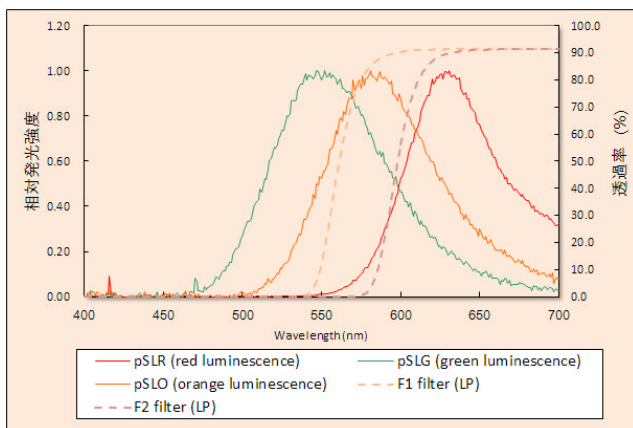
キサンチンとキサンチンオキシダーゼを用いてスーパーオサイドを生成させ、これに抗酸化成分を添加します。さらにスーパーオキサイドと反応性が高い発光試薬MPECを添加し発光量を計測します。抗酸化物質の添加前（コントロール）と添加後の結果からスーパーオキサイド消去能を求めることができます。

1nmoleのEpigallocatechin Gallate, Vitamin C, 水溶性Vitamin E 誘導体のスーパーオキサイド消去能を比較した結果です。お茶に含まれるカテキンに優れたスーパーオキサイド消去能のあることがわかります。

Control	Epigallocatechin	Vitamin C	Vitamin E
100	1.74	0.3	42.8

Triple Reporter Assay

Luminescecer Octaには３色ルシフェラーゼ発光の自動解析機能があります。まず、Tripluc（TOYOBO）ルシフェラーゼの単色ごとの直線性を確認しました。各色とも良好な直線性が確認できます。次に、SLGの濃度を一定にして、SLOとSLRの混合比率を変え発光量を計測し、この計測値をもとに各色の濃度を解析しました。この結果から、同一サンプル中に混在する3色の発光を同時に計測できることが分ります。3色のルシフェラーゼ遺伝子をレポーターとして使用すれば、それぞれの遺伝子の発現量を同一の細胞で計測することが可能です。

Triplucの直線性

Triplucの３色混合測定

3色発光の自動解析機能

Luminescecer Octa には2種類のフィルターを透過する発光量を計測して3種類のLuciferase発光量を求める色分離機能が搭載されています。3色のルシフェラーゼの発光ピーク波長は、それぞれSLG: 540nm, SLO: 570nm, SLR: 625nm（波長は要確認）（ベクターはTOYOBO社から入手）です。SLOとSLGの発光を良く透過するフィルターを用いた測定値とSLRを良く透過するフィルターを用いた測定値とフィルター用いない通常の測定値から、各色の発光量を計算します。（特許　第4052389号）

関連製品

注入口セプタム付扉

貴重な発光試薬を容器上部からマイクロシリンジを使ってインジェクションできます。

AB-2350 Phelios

プレート用ルミノメータ

型式・名称	AB-2270 ルミネッセンサーOcta	AB-2270-R ルミネッセンサーOcta(ポンプなし)
商品コード	3511035	3511036
測定容器	φ12×55mmチューブ／1.5mL遠心チューブ	
検出器	光電子増倍管	
計測方法	光電子増倍管によるフォトンカウンティング方式	
感度	10^{-18}mole ATP, 10^{-21}mole Luciferase	
ダイナミックレンジ	8桁(ATP)	
測定波長(全光測定時)	350〜670nm	
フィルター	F0:なし(全光)　F1:O56　F2:R60	
色分離機構	フィルター自動切換機構測定により、最大3色まで分離可	
分注ポンプ	プランジャー型1台内蔵(25〜300μL) 25μLステップ 分注再現性:CV <1%(300μL)	なし
プリンタ	24桁サーマルプリンタ内蔵	
計測時間	1〜2000秒(単色光測定時) 1〜600秒(波長分離測定時)/フィルター	
リピート機能	各計測モードで使用可能　最大99回 インターバル(計測時間含む)設定:計測時間〜3600秒※1	
温調機能※2	オプション	
プレインキュベーション・ディレイタイム	0〜3600秒	
計測モード	Basic/Single/Dual　フィルター自動切換機構のON/OFF可能	
データ保存	計測結果200ファイル保存可能 キャリブレーション9ファイル保存可能 データ転送プログラムでPCへ保存可能(Windows)※3	
操作	パネルシート・キースイッチ操作	
保護機能	チューブ検知/扉開閉検知/フォトマル保護機能	
サイズ・質量	250mm(W)×310mm(D)×176mm(H)	
	7.5kg	7.0kg
電源	AC100V　50/60Hz　50VA	
	※1:計測スタート〜次回計測スタートの間隔をインターバルとします。 ※2:温調機能はオプションです。 ※3:データ転送には別途USBケーブルが必要です。	
標準構成品	ルミネッセンサーOcta本体・・・・1台 データ転送プログラムソフトウエア(Windows)・・・・1本 試験管/遠心チューブ兼用ホルダー・・・・1個 ルミネッセンサー用ロールペーパー・・・・2巻 片側フィッティングチューブ(20cm)・・・・1本 ACケーブル・・・・1本　取扱説明書・・・・1冊	

Octa用途別適応表

アッセイの種類	AB-2270	AB-2270-R
マルチカラールシフェラーゼアッセイ	○	○
ルシフェラーゼアッセイ	○	○
デュアルルシフェラーゼアッセイ	○	○
長時間測定（ライブセルアッセイなど）	×	×
活性酸素測定（生細胞）	△	△
カルシウムイオン濃度測定	○	×
抗酸化能測定（CLETA-S他）	○	△
ELISA・イムノアッセイ	△	△
ATPアッセイ	○	○
生菌測定（BactoLumix）	○	△

アトー株式会社

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器
開発/生産/販売/サービス

主要製品
●DNA分析機器
●画像分析システム
●ペリスタポンプ
●発光分析装置
●クロマトグラフ
●バイオ研究機器
●電気泳動分析機器
●医療分析装置

■本　社 〒111-0041東京都台東区元浅草3-2-2 ☎(03)5827-4861(代表) Ⓕ(03)5827-6647
◆技術サービス ☎(03)5827-4873(代表) Ⓕ(03)5827-4874
■技術開発センター 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6 (東京都許可　医療機器製造業) ☎(03)5818-7560(代表) Ⓕ(03)5818-7563
■大阪支店 〒530-0054 大阪市北区南森町2-1-7 ☎(06)6365-7121(代表) Ⓕ(06)6365-7125

■URL http://www.atto.co.jp/　■本　社 e-mail:info@atto.co.jp　■大阪支店 e-mail:osaka@atto.co.jp